

FORMAS FILAMENTOSAS DE *Escherichia coli* UROPATOGENA, COMO PARTE DEL REPORTE BACTERIOLÓGICO DE RUTINA

Nieto-Baca Juan-Miguel^{1,a}, Aguilar-Gamboa Franklin-Rómulo^{2,a}

RESUMEN

Escherichia coli uropatógena (UPEC) atraviesa una serie de cambios morfológicos y fisiológicos sucesivos durante su desarrollo en el epitelio, lo cual es crítico para el establecimiento de infecciones del tracto urinario inferior (UTI). La mayoría de UPEC dentro de una comunidad bacteriana intracelular (IBC) exhiben plasticidad morfológica con una transición de bacilar a cocoide. Una subpoblación de UPEC bajo ciertas condiciones, exhibe una plasticidad morfológica adicional a través de la inhibición de la división celular, dando como resultado un fenotipo filamentoso, el cual tiene impacto en las recidivas e ineffectividad del tratamiento antimicrobiano.

Palabras clave: *Escherichia coli Uropatógena*, Infecciones Urinarias, Biopelículas. (Fuente: DeCS- BIREME).

FILAMENTOUS UROPATHOGENIC *Escherichia coli* AS PART OF THE BACTERIOLOGICAL REPORT OF ROUTINE

ABSTRACT

Uropathogenic Escherichia coli (UPEC) undergoes a series of successive morphological and physiological changes during its development in the epithelium which is critical for the establishment of lower urinary tract infections (UTI). The majority of UPEC within an intracellular bacterial community (IBC) exhibit morphological plasticity with a transition from bacillary to cocoide. A subpopulation of UPEC under certain conditions exhibits additional morphological plasticity through inhibition of cell division, resulting in a filamentous phenotype, which has an impact on relapses and ineffectiveness of antimicrobial treatment.

Key words: Uropathogenic *Escherichia coli*, Urinary Tract Infections, Biofilms. (Source: MeSH-NLM).

INTRODUCCIÓN

Las infecciones del tracto urinario (ITU) son una de las patologías más frecuentes que afectan al ser humano, ubicándose en segundo lugar después de las infecciones a las vías respiratorias. Éstas son de particular prevalencia en mujeres quienes pueden padecer de ITU más de una vez en su vida⁽¹⁾.

Los agentes etiológicos más importantes que causan ITU son bacilos gram negativos que pertenecen a la familia Enterobacteriaceae, entre ellas *Escherichia coli uropatógena* (UPEC) es la causa más frecuente tanto a nivel nosocomial como comunitario⁽²⁾. El antibiotipado de esta bacteria, realizado como parte de la rutina en los cultivos bacteriológicos aporta información importante para establecer esquemas de tratamiento efectivos para ITU. Sin embargo muchos antibióticos que son efectivos *in vitro* no lo son *in vivo*, sumado a esto se conoce hoy en día que ciertos antibióticos como los betalactámicos estimulan la formación de biofilms en bacilos gram negativos⁽³⁾, lo cual disminuye su efectividad en el tratamiento. En este sentido se hace

necesario no solo detectar si la bacteria produce mecanismos de resistencia enzimáticos frente a antibióticos, sino también si expresa factores de virulencia que contribuyan a la resistencia tal como la formación de biofilms o la formación de comunidades intracelulares bacterianas (IBC).

La presencia de IBC en la vejiga del paciente afectado es una importante causa de recidivas y cronicidad en las ITU, siendo las enterobacterias con fenotipo filamentoso su principal evidencia. Por ello su reporte en los análisis de rutina podría contribuir en el abordaje clínico de esta patología y de esta manera evitar tratamientos prolongados, fallas terapéuticas y elevados costes en salud. Por tal motivo, se revisarán en la presente los mecanismos de formación de fenotipos filamentosos en muestras de orina y la importancia de su detección en laboratorio clínico.

Escherichia coli uropatógena con fenotipo filamentoso

En 1965, Adler y Hardigree elaboraron uno de los primeros reportes acerca de la presencia del fenotipo filamentoso en *E. coli*. El artículo titulado "*Growth and Division of Filamentous Forms of Escherichia coli*" describe como las células de

¹ Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque-Perú.

² Laboratorio de Microbiología, Dirección de Investigación, Hospital Regional Lambayeque.

^a Biólogo- Microbiólogo.

ciertas cepas mutantes de *E. coli* crecen en largos filamentos multinucleados después de la exposición a la radiación. Asimismo demostraron que no ocurre citoquinesis ante la exposición a un antibiótico denominado mitomicina C.⁽⁴⁾

Las proteínas de unión a penicilina son responsables de la polimerización de la capa de peptidoglicano en la pared celular de las bacterias y son importantes en la regulación de la forma de las mismas. El fenotipo filamentososo se genera por la inhibición, la mutación o eliminación de la proteína 3 de unión a penicilina (PBP3 ó FTSI), la cual es responsable de reticulación de la pared de peptidoglicano en el tabique de división de *E. coli* y puede ser inhibido por los antibióticos β lactámicos principalmente cefalexina, aztreonam y piperacilina⁽⁵⁾.

E. coli presenta forma bacilar y mide aproximadamente 800 nm de ancho y 2,5 μ m de largo. Las células filamentosas de *E. coli* son largas, multinucleadas, y se forman cuando las células normales se alargan y replican su ADN, pero no tabican ni se dividen. Estas células alargadas actúan en conjunto de manera normal incluso sintetizando flagelos.

La ausencia de un tabique permite que las moléculas pequeñas se difundan a lo largo de toda la extensión del interior celular. El fenotipo filamentososo de *E. coli* se ha utilizado para estudiar los tipos de motilidad y quimiotaxis, derivada de la coordinación de Flagelos motores. Así como el crecimiento y la división celular, por la distribución y la partición de nuevo peptidoglicano durante la expansión de la pared celular y la formación del tabique⁽⁶⁾.

Las células de *E. coli* se mueven a través de la solución en línea recta y en redireccionamientos. Para ello, las células utilizan varios flagelos helicoidales; cada flagelo mide 20 nm de ancho y 10 μ m de largo. Los flagelos de rotación de *E. coli* ejercen un empuje hacia adelante en el cuerpo de la célula que la impulsa a través de la solución.

La velocidad de nado de las células normales de *E. coli* es de aproximadamente 20 micras / s, y la velocidad de rotación es de aproximadamente 10 Hz, mientras que el fenotipo filamentososo puede nadar en aproximadamente 11 micras / s⁽⁶⁾.

Relación del fenotipo filamentososo con la cistitis crónica

La capacidad de formar biofilms se relaciona con desarrollo de cistitis crónica y/o infecciones recurrentes en pacientes con ITU⁽⁷⁾. Estudios de videomicroscopía en infecciones in vitro causadas por UPEC han revelado que este tipo de infecciones pasan por cuatro estadios: el primero se inicia con la invasión de las células del epitelio de transición de la vejiga y se continúa con la formación de Comunidades Intracelulares Bacterianas (IBC), manteniendo su forma bacilar y un tiempo de duplicación corta. La segunda fase se caracteriza por procesos de maduración de todas las bacterias del IBC en conjunto (*quorum sensing*) para formar "capullos" con características de biofilm; las bacterias en esta etapa adquieren una forma cocoide y tienen un tiempo de duplicación más largo. El tercer estadio de UPEC se caracteriza porque recobra su forma bacilar, pero adquiere motilidad con lo cual puede salir de las células superficiales hacia el lumen de la vejiga ocasionando bacteriuria, la

exfoliación de células y la invasión al epitelio sano. En la cuarta fase de la infección se observa que algunas subpoblaciones de UPEC siguen creciendo pero fallan en el proceso de división mediado por Su1A (sistema de reparación de daño de ADN), dando como resultado bacterias filamentosas de hasta 70 μ m de largo⁽⁸⁾. Esta forma filamentososa se desarrolla dentro de las IBC, pero pueden salir de estas y dar lugar a células hijas de forma bacilar y de tamaño normal que pueden infectar otras células de la vejiga.



Figura 1. Leucocito intentando fagocitar una bacteria filamentososa de más de 10 μ m.

Fuente: comunicación corta: "Formas filamentosas de *Escherichia Coli Uropatogena*, como parte del reporte bacteriológico de rutina"

La filamentación de UPEC se considera un mecanismo de supervivencia y patogenicidad, y es una evidencia directa de la formación de IBC en el epitelio urinario. Las IBC impiden que los PMN puedan cumplir con su función fagocítica y generan persistencia de la infección⁽⁹⁾.

Estudios *in vivo* revelaron que antibióticos cuyos ensayos *in vitro* demostraban gran actividad frente a las IBC (nitrofurantoina y quinolonas) no lograban en realidad su objetivo aun cuando habían sobrepasado la concentración mínima inhibitoria⁽¹⁰⁾. Estos mecanismos de resistencia no pueden ser apreciados en los ensayos de sensibilidad antimicrobiana de rutina.

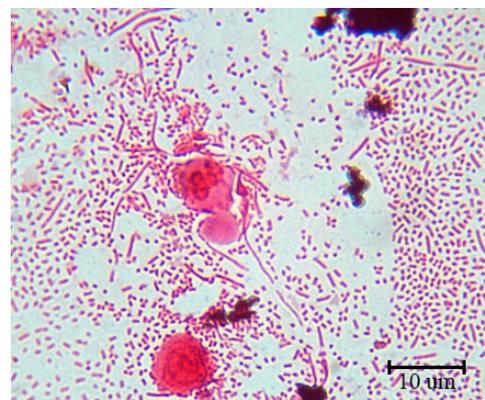


Figura 2. Bacteria filamentososa en coloración gram de sedimento urinario (40X).

Fuente: comunicación corta: "Formas filamentosas de *Escherichia Coli Uropatogena*, como parte del reporte bacteriológico de rutina"

En nuestra práctica diaria en el laboratorio de microbiología hemos podido detectar en el estudio de sedimento urinario de pacientes con reacción inflamatoria positiva la presencia de bacterias gram negativas con formas filamentosas. (Figura 1 y 2) Y aunque la búsqueda de estos fenotipos no es considerado en los protocolos de rutina muchas veces lo realizamos ante el comentario de recidivas y falta éxito terapéutico referido por los mismos pacientes. La presencia de estos fenotipos filamentosos ayuda a comprender los casos de fracaso en el tratamiento basados en los resultados de los antibiogramas con efectividad *in vitro* para ciertos antibióticos.

CONCLUSIÓN

Por lo expuesto, recomendamos solicitar la búsqueda y reporte de este fenotipo filamentosos de bacterias procedentes de orina de manera rutinaria en los informes de cultivos bacteriológicos, considerando que las formas filamentosas reveladas a la coloración Gram de sedimento urinario sumado a otros indicadores de ITU como piuria y prueba de nitritos positiva, pueden contribuir tanto a la toma de decisiones en el tratamiento de los pacientes como a predecir el éxito de ciertos antibióticos no solo en base al antibiograma sino también a la presencia de fenotipos filamentosos derivados de IBC (como evidencia de la formación de biofilms), contribuyendo así a evitar el fracaso clínico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aguilar ES, Osoreo-Plenge F. Simposio Infección del tracto urinario y manejo antibiótico. *Acta Med Per.* 2006;23(22):26–31.
2. Ejrnæs K. Bacterial characteristics of importance for recurrent urinary tract infections caused by *Escherichia coli*. *Dan Med Bull* [Internet]. 2011 Apr [cited 2016 Oct 4]; 58(4): B 4187. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21466767>
3. Wu S, Li X, Gunawardana M, Maguire K, Guerrero-Given D, Schaudinn C, et al. Beta-lactam antibiotics stimulate biofilm formation in non-typeable *Haemophilus influenzae* by up-regulating carbohydrate metabolism. *PLoS One* [Internet]. 2014 [cited 2016 Oct 4]; 9(7):e99204. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25007395>
4. Adler HI, Hardigree AA. Growth and Division of Filamentous Forms of *Escherichia coli*. *J Bacteriol* [Internet]. 1965 Jul [cited 2017 Aug 24];90(1):223–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16562021>
5. Eberhardt C, Kuerschner L, Weiss DS. Probing the catalytic activity of a cell division-specific transpeptidase *in vivo* with beta-lactams. *J Bacteriol* [Internet]. 2003 Jul [cited 2017 Oct 9]; 185(13):3726–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12813065>
6. Takeuchi S, DiLuzio WR, Weibel DB, Whitesides GM. Controlling the shape of filamentous cells of *Escherichia coli*. *Nano Lett* [Internet]. 2005 Sep [cited 2017 Oct 9]; 5(9):1819–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16159230>
7. Delcaru C, Alexandru I, Podgoreanu P, Grosu M, Stavropoulos E, Chifiriuc MC, et al. Microbial Biofilms in Urinary Tract Infections and Prostatitis: Etiology, Pathogenicity, and Combating strategies. *Pathog* (Basel, Switzerland) [Internet]. 2016 Nov 30 [cited 2017 Oct 9]; 5(4). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27916925>
8. Horvath DJ, Li B, Casper T, Partida-Sanchez S, Hunstad DA, Hultgren SJ, et al. Morphological plasticity promotes resistance to phagocyte killing of uropathogenic *Escherichia coli*. *Microbes Infect* [Internet]. 2011 May [cited 2017 Oct 15]; 13(5):426–37. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21182979>
9. Liu S, Han X, Shi M, Pang Z. Persistence of uropathogenic *Escherichia coli* in the bladders of female patients with sterile urine after antibiotic therapies. *J Huazhong Univ Sci Technol [Medical Sci]* [Internet]. 2016 Oct 18 [cited 2017 Oct 15]; 36(5):710–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27752899>
10. Blango MG, Mulvey MA. Persistence of uropathogenic *Escherichia coli* in the face of multiple antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(5):1855–63.

Revisión de pares: Recibido: 07/1117 Aceptado: 18/12/17